

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation 7 :	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/35475
A61K 38/18, A61P 9/10		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. Juni 2000 (22.06.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/09864	(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(22) Internationales Anmeldedatum: 13. Dezember 1999 (13.12.99)	
(30) Prioritätsdaten: 198 57 609.9 14. Dezember 1998 (14.12.98) DE	
(71)(72) Anmelder und Erfinder: EHRENREICH, Hannelore [DE/DE]; Valentinsbreite 21, D-37077 Göttingen (DE). GLEITER, Christoph [DE/DE]; Am Unteren Herrlesberg 5, D-72074 Tübingen (DE).	
(74) Anwalt: PFENNING MEINIG & PARTNER GBR; Mozartstrasse 17, D-80336 München (DE).	Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>

(54) Titel: METHOD FOR THE TREATMENT OF CEREBRAL ISCHAEMIA AND USE OF ERYTHROPOIETIN OR ERYTHROPOIETIN DERIVATIVES FOR THE TREATMENT OF CEREBRAL ISCHAEMIA

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR BEHANDLUNG VON CEREBRALEN ISCHÄMIEN SOWIE VERWENDUNG VON ERYTHROPOIETIN ODER ERYTHROPOIETIN-DERIVATEN ZUR BEHANDLUNG VON CEREBRALEN ISCHÄMIEN

#### (57) Abstract

The invention relates to a method for the treatment of cerebral ischaemia and to an agent for the treatment of cerebral ischaemia, notably in humans, of the kind seen, for example, in stroke patients. Surprisingly it was found that the peripheral administration of erythropoietin to ischaemic cerebral tissue has a marked protective effect. Erythropoietin dramatically reduces the area of permanently damaged cerebral tissue, notably in the penumbra, in comparison to results obtained with conventional measures without administration of erythropoietin.

#### (57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien sowie auf ein Mittel zur Behandlung cerebraler Ischämien insbesondere des Menschen, wie sie beispielsweise bei Schlaganfallpatienten auftreten. Überraschend wurde gefunden, daß die periphere Gabe von Erythropoietin auf das von der Ischämie betroffene cerebrale Gewebe einen ausgeprägt protektiven Effekt aufweist. Erythropoietin bewirkt dabei, daß der Bereich des dauerhaft geschädigten cerebralen Gewebes, insbesondere in der Penumbra, dramatisch verkleinert wird gegenüber herkömmlichen Maßnahmen bei cerebraler Ischämie ohne Erythropoietingabe.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien  
sowie Verwendung von Erythropoietin oder  
Erythropoietin-Derivaten zur Behandlung von  
cerebralen Ischämien

5 Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein  
Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien  
sowie auf ein Mittel zur Behandlung cerebraler  
Ischämien von Säugetieren, insbesondere des Menschen,  
wie sie beispielsweise bei Schlaganfallpatienten  
auftreten.

10 Beim ischämischen Hirninfarkt unterscheidet man die  
geschädigten Bereiche in ischämische Kernzone sowie  
die den Kern umgebende sogenannte Penumbra. Das  
Ausmaß von ischämischem Kern plus Penumbra  
determiniert die Schadensgröße nach ischämischem  
15 Insult.

Erythropoietin, auch abgekürzt als "EPO" bezeichnet,  
ist ein körpereigenes Glycoprotein mit einem  
Molekulargewicht von 30000 Dalton (W. Jelkmann,  
„Erythropoietin: Structure, Control of Production,  
and Function“, Physiological Reviews, 1992, Band 72,  
Seiten 449 bis 489). Es ist ein wesentlicher  
Wachstumsfaktor für die Produktion von Erythrozyten  
und wurde bereits 1977 erstmals isoliert.

Erythropoietin ist seit vielen Jahren in häufigem  
klinischem Gebrauch bei Patienten mit renaler Anämie  
bei Nephrodialyse, zur Gewinnung größerer Mengen  
autologen Blutes vor geplanten Operationen und geriet  
auch als Dopingmittel in die Schlagzeilen der Presse.

Dabei erwies sich Erythropoietin als ausgesprochen  
gut verträglich. Als relevante Nebenwirkungen sind  
insbesondere die oft therapeutisch erwünschte  
Stimulation der Hämatopoiese mit Polyglobulie sowie  
eine selten zu beobachtende arterielle Hypertonie zu  
nennen. Beide Auswirkungen sind hauptsächlich nach  
chronischer Erythropoietin-Gabe zu erwarten. Sie sind  
im Bedarfsfall relativ einfach durch medikamentöse  
Behandlung bzw. Aderlaß abzuhelfen.  
Unverträglichkeitsreaktionen bzw. anaphylaktische  
Reaktionen gehören bei Erythropoietin zu den  
Raritäten.

Bis heute gibt es keine wirksame Therapie cerebraler  
Ischämien, wie beispielsweise zur Behandlung von

Schlaganfallpatienten, ohne Eingriff in den Kopfbereich des Patienten.

5 Sakanaka M. et al. offenbaren in PNAS 1998, Band 95, nr. 8, S. 4635 - 4640, daß die zentrale Gabe von Erythropoietin im Tierversuch eine protektive Wirkung auf cerebrale Neuronen ausübt. Aufgrund der Kenntnis, daß die Blut-Hirn-Schranke durch größere Proteine nicht überwunden werden kann, erfolgt in sämtlichen Versuchen die Gabe des Erythropoietin direkt zentral  
10 in den lateralen Ventrikel. Eine derartige unmittelbar intraventrikuläre Gabe des Erythropoietin, d.h. unmittelbare Infusion des Erythropoietin in das Hirngewebe scheidet jedoch beim Menschen aufgrund der hohen Risiken, die mit der Anlage und dem Unterhalt einer temporären  
15 Ventrikeldrainage verbunden sind, beispielsweise Infektionen oder Blutungen, aus.

20 DelMastro L. et al. offenbaren in Oncologist 1998, 3/5, S. 314-318, daß die präventive Gabe von Erythropoietin eine Anämie in chemotherapeutisch behandelten Krebspatienten verhindern und damit präventiv das Risiko derartiger Patienten bzgl. einer cerebralen Ischämie in Folge einer chemotherapeutisch verursachten Anämie reduzieren kann. Eine Therapie  
25 für eine bereits vorliegende cerebrale Ischämie, insbesondere bei nicht chemotherapeutisch behandelten Patienten, ist darin nicht offenbart.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, ein Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien, ein Mittel zur Verwendung bei der Behandlung cerebraler Ischämien sowie ein Mittel zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung cerebraler Ischämien zur Verfügung zu stellen, die einfach und möglichst nebenwirkungsfrei sowie risikenfrei angewandt werden können.

Diese Aufgabe wird durch das Verfahren nach Anspruch 1, die Verwendung zur Herstellung eines Arzneimittels nach Anspruch 9 sowie die Verwendung nach Anspruch 17 gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen der erfindungsgemäßen Verfahren und Verwendungen werden in den jeweiligen abhängigen Ansprüchen gegeben.

Ansatzpunkt für das erfindungsgemäße Verfahren und die erfindungsgemäßen Verwendungen von Erythropoietin ist es, daß nach stattgefunder Ischämie, beispielsweise nach einem Schlaganfall, möglichst früh so viel wie möglich des geschädigten Hirngewebes, insbesondere der Penumbra, gerettet werden sollte. Es wurde gefunden, daß eine periphere Gabe von Erythropoietin einen ausgeprägt protektiven Effekt auf das von der Ischämie betroffene cerebrale Gewebe aufweist. Erythropoietin bewirkt dabei, daß der Bereich des geschädigten cerebralen Gewebes, insbesondere in der Penumbra, dramatisch verkeinert wird gegenüber herkömmlichen Maßnahmen bei cerebraler Ischämie ohne Erythropoetingabe.

Diese unerwartete gewebsrettende Wirkung des peripher gegebenen Erythropoietins bei cerebraler Ischämie des Menschen ist schon deshalb nicht selbstverständlich, da Erythropoietin bekanntermaßen als größeres Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 30000 Dalton die Blut-Hirn-Schranke gewöhnlich nicht zu überwinden vermag. Eine unmittelbar intraventrikuläre Gabe des Erythropoietin, d.h. unmittelbare Infusion des Erythropoietin in das Hirngewebe scheidet jedoch beim Menschen gewöhnlich aus wegen Risiken, die mit der Anlage und dem Unterhalt einer temporären Ventrikeldrainage verbunden sind, wie Infektionen oder Blutungen.

Es ist das Verdienst der vorliegenden Erfindung, zu erkennen und umzusetzen, daß überraschenderweise zur Behandlung einer stattgehabten cerebralen Ischämie unmittelbar nach dem schädigenden Ereignis Erythropoietin peripher als Arzneimittel gegeben werden kann und dann in das geschädigte Hirnareal übergeht und wirksam wird.

Die periphere Gabe von Erythropoietin, d.h. diesseits der Blut-Hirn-Schranke, erfolgt vorteilhafterweise intramuskulär oder vaskulär. Eine unmittelbar vaskuläre Gabe, die bekanntermaßen vorteilhafterweise bei Arzneimitteln meist intravenös erfolgen sollte, bietet sich hier geradezu an, um das Erythropoietin innerhalb eines kurzen Zeitraums, d.h. so rasch wie möglich nach dem schädigenden Ereignis, in einer

hohen Dosis zu dem geschädigten cerebralen Gewebe zu bringen.

Es ist daher davon auszugehen, daß Erythropoietin unmittelbar nach der Schädigung des Hirngewebes durch die Ischämie in den geschädigten Bereichen die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann. Daher ist es möglich, dem beispielsweise durch einen Schlaganfall geschädigten Patienten ein Arzneimittel, das Erythropoietin enthält, zu verabreichen, wobei das Erythropoietin tatsächlich das geschädigte Hirngewebe erreicht.

Damit steht erstmals ein wirksames Therapeutikum für die cerebrale Ischämie bei Säugetieren, insbesondere beim Menschen, wie beispielsweise bei einem Schlaganfall, zur Verfügung.

Vorteilhaft ist dabei weiterhin, daß die intakte Blut-Hirn-Schranke in den nicht-geschädigten cerebralen Gewebebereichen ein Eindringen des dort nicht benötigten Erythropoietin weiterhin wirksam verhindert und so die nicht von dem ischämischen Infarkt betroffenen Gewebebereiche von der Therapie nicht beeinflußt werden, also auch keine oder nur stark verringerte Nebenwirkungen auftreten können.

Vorteilhafterweise wird Erythropoietin als Arzneimittel mit einer Dosierung in Höhe von 5000 bis 100000 Einheiten, idealerweise von 35000 Einheiten, pro Gabe, möglichst mit einer Gabe pro Tag in den

ersten Tagen, erstmals möglichst innerhalb von 8  
Stunden nach dem Schlaganfall, angewandt. Es genügen  
dabei einige wenige Gaben von Erythropoietin, um den  
therapeutischen Effekt herbeizuführen. Dies hat  
5 weiterhin den Vorteil, daß die hauptsächlich bei  
langdauernden, kontinuierlichen Behandlungen anderer  
Krankheitsbilder nach dem oben beschriebenen Stand  
der Technik beobachteten Nebenwirkungen und Risiken  
bei der Verwendung von Erythropoietin zur Behandlung  
10 cerebraler Ischämie nicht oder nur geringfügig  
auftreten werden.

Erythropoietin ist aus dem Stand der Technik bekannt.  
Humanes Erythropoietin wurde erstmals aus Urin  
isoliert (T. Miyake et al. 1977, J. Biol. Chem., Bd.  
15 252, S. 5558 – 5564). Heute erfolgt die Herstellung  
durch DNA-Rekombination. Durch diese Methode kann es  
in ausreichenden Mengen hergestellt und  
erfindungsgemäß verwendet werden. Auch weitere  
Varianten des Erythropoietins mit veränderter  
20 Aminosäuresequenz oder -struktur oder auch  
Bruchstücke mit den für die biologische Funktion des  
Erythropoietin relevanten funktionellen  
Sequenzabschnitten können für die erfindungsgemäße  
Verwendung eingesetzt werden und sollen unter den  
25 Begriff "Erythropoietin", wie er in dieser Anmeldung  
verwendet wird, fallen. Variabilität der  
erfindungsgemäß einsetzbaren Erythropoietin-Varianten  
ergibt sich weiterhin aus Abwandlungen in der  
Glycosilierung des Erythropoietins.

Bei dem erfindungsgemäß zu verwendenden Erythropoietin kann es sich folglich unter anderem um das humane Erythropoietin handeln, wie es natürlicherweise vorkommt, oder auch um 5 Erythropoietin-Produkte bzw. Erythropoietin-Analoga (allgemein: Erythropoietin-Varianten bzw. -Derivate), die Abwandlungen von dem natürlichen humanen Erythropoietin aufweisen, wie zum Beispiel Modifikationen der Sequenz wie Deletionen und 10 Substitutionen, oder auch Abwandlungen der Kohlenhydratzusammensetzungen. Derartige Erythropoietin-Produkte können durch verschiedene Herstellungsverfahren erzeugt werden. Derartige Herstellungsverfahren für erfindungsgemäß einsetzbare 15 Erythropoietin-Varianten, -Derivate bzw. -Analoga sind beispielsweise in den Patentanmeldungen WO 86/03520, WO 85/02610, WO 90/11354, WO 91/06667, WO 91/09955, WO 93/09222, WO 94/12650, WO 95/31560 und WO 95/05465 beschrieben, deren Offenbarungen sämtlich 20 vollständig hiermit in den Offenbarungsgehalt in die vorliegende Patentanmeldung per Referenz hierauf aufgenommen und in die vorliegende Patentanmeldung eingeschlossen sein sollen.

25 Im folgenden werden Beispiele für das erfindungsgemäße Verfahren und die erfindungsgemäßen Verwendungen gegeben.

Es zeigen:

Fig 1 das Auftreten von Erythropoietin im Serum und  
in der Cerebrospinalflüssigkeit nach einem  
Schlaganfall, sowie

Fig. 2 das Läsionsausmaß nach cerebraler Ischämie.

- 5        In Fig. 1A ist der Mittelwert der Serumkonzentration  
von 4 Patienten mit Schlaganfall, d.h. deren  
periphere Konzentration von Erythropoietin über  
mehrere Tage aufgetragen, denen ca. 8 Stunden, ca. 24  
Stunden und nochmals ca. 48 Stunden nach dem  
10      Schlaganfall jeweils eine Dosis von 35000 IE humanes  
rekombinantes Erythropoietin (Präparat "Neorecormon"  
der Fa. Hoffmann-LaRoche AG) intravenös gegeben  
wurde. Es ist zu erkennen, daß die Serumkonzentration  
innerhalb der ersten Tage ihr Maximum erreicht und  
15      anschließend wieder stark abfällt.  
  
In Fig. 1B sind die Konzentrationen von EPO in sechs  
Kontrollpatienten mit nichtischämischen  
neurologischen Erkrankungen ("Neurological Disease  
Controls") nach Infusion von Erythropoietin, in zwei  
unbehandelten Schlaganfallpatienten ("Stroke  
Controls") ohne Infusion von Erythropoietin sowie in  
20      vier Schlaganfallpatienten ("EPO-Patients") nach  
Infusion von Erythropoietin wie bei den  
Kontrollpatienten dargestellt. Dargestellt ist dabei  
der Mittelwert der EPO-Konzentration in der  
Cerebrospinalflüssigkeit, wie er im Mittel 6,4  
25      Stunden nach einer ersten Infusion von 35000 IE  
humanen rekombinanten Erythropoietins (Präparat  
"Neorecormon" der Fa. Hoffmann-LaRoche AG) bestimmt

wurde. Bei den vier Schlaganfallpatienten ("EPO-Patients") handelt es sich um dieselben Patienten wie in Fig. 1A.

Es ist, unter Berücksichtigung der verwendeten  
5 logarithmischen Skala der Darstellung in Fig. 1B,  
unmittelbar zu erkennen, daß die Konzentration des  
Erythropoietin in der Cerebrospinalflüssigkeit in  
Schlaganfallpatienten ("EPO-Patients") um das ca.  
100-fache über der der gleich behandelten  
10 Kontrollpatienten ("Neurological Disease Controls")  
oder auch der unbehandelten Schlaganfallpatienten  
("Stroke-Controls") liegt.

Es ist das Verdienst der vorliegenden Erfindung, zu  
erkennen, daß im Falle einer cerebralen Ischämie die  
15 Blut-Hirn-Schranke für Erythropoietin durchlässig  
wird, so daß zur Behandlung einer cerebralen Ischämie  
unmittelbar nach dem schädigenden Ereignis  
Erythropoietin peripher als Arzneimittel in das  
geschädigte Hirnareal übergehen und wirksam werden  
20 kann.

Fig. 2 zeigt das Läsionsausmaß nach einem  
Schlaganfall bei einem 73 Jahre alten Patienten. Die  
gezeigten Aufnahmen wurden mittels magnetischer  
Kernresonanzspektroskopie ("diffusion-weighted MRI")  
erzeugt.  
25

Der Patient wurde ca. 8 Stunden nach einem  
Schlaganfall mit 35000 IE humanem rekombinantem  
Erythropoietin (Präparat "Neorecormon" der Fa.  
Hoffmann-LaRoche AG) intravenös infundiert. Ca. 24  
30 Stunden und 48 Stunden nach dem Schlaganfall wurde

jeweils eine weitere gleich hohe Dosis Erythropoietin gegeben.

5 Fig 2A zeigt dabei drei Schnittansichten von unten während des Therapieverlaufs durch das Gehirn des Patienten ca. 7 Stunden nach dem Schlaganfall.

Deutlich durch ihre weiße Färbung abgesetzt sind die durch den Schlaganfall geschädigten Bereiche zu erkennen.

10 In Fig. 2B sind die geschädigten Bereiche ca. 3 Tage nach dem Schlaganfall ebenfalls durch ihre weiße Färbung (mit dunklem Kern) zu erkennen..

15 Fig. 2C zeigt dieselben Schnittansichten nach 18 Tagen. Deutlich zu erkennen ist, daß es zu einer markanten Reduktion der Primärläsion kam. Diese Reduktion des ischämischen Infarktareals ist u.a. der Behandlung mit Erythropoietin zuzuschreiben.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien eines Säugetieres, dadurch gekennzeichnet, daß Erythropoietin peripher appliziert wird.  
5
2. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, daß die Applikation vaskulär erfolgt.
3. Verfahren nach dem vorhergehenden Anspruch,  
10 dadurch gekennzeichnet, daß die Applikation intravenös erfolgt.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Erythropoietin zur Behandlung des Schlaganfalls  
15 appliziert wird.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Erythropoietin in einer Dosis von 5000 IE bis  
20 100000 IE pro Gabe und/oder pro Tag appliziert wird.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Erythropoietin in einer Dosis von 35000 IE pro Gabe und/oder pro Tag appliziert wird.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Erythropoietin natives oder rekombinantes menschliches oder tierisches Erythropoietin oder ein Derivat hiervon appliziert wird.  
5
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Säugetier ein Mensch behandelt wird.
9. Verwendung von Erythropoietin zur Herstellung eines peripher zu applizierenden Arzneimittels zur Behandlung von cerebralen Ischämien von Säugetieren.  
10
10. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch zur Herstellung eines vaskulär zu applizierenden Arzneimittels.  
15
11. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch zur Herstellung eines intravenös zu applizierenden Arzneimittels.
12. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 11 zur Herstellung eines peripher zu applizierenden Arzneimittels zur Behandlung des Schlaganfalls.  
20
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 12 in einer Dosis von 5000 IE bis 100000 IE pro Gabe und/oder pro Tag.

14. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 13 in einer Dosis von 35000 IE pro Gabe und/oder pro Tag.
- 5 15. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß als Erythropoietin ein natives oder rekombinantes menschliches oder tierisches Erythropoietin oder ein Derivat hiervon verwendet wird.
- 10 16. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß das Säugetier ein Mensch ist.
- 15 17. Verwendung von Erythropoietin als peripher zu applizierendes Mittel zur Behandlung von cerebralen Ischämien eines Säugetieres.
18. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch als vaskulär zu applizierendes Mittel.
19. Verwendung nach dem vorhergehenden Anspruch als intravenös zu applizierendes Mittel.
- 20 20. Verwendung nach einem der Ansprüche 17 bis 19 zur Behandlung des Schlaganfalls.
21. Verwendung nach einem der Ansprüche 17 bis 20 in einer Dosis von 5000 IE bis 100000 IE pro Gabe und/oder pro Tag.

22. Verwendung nach einem der Ansprüche 17 bis 21 in einer Dosis von 35000 IE pro Gabe und/oder pro Tag.
- 5 23. Verwendung nach einem der Ansprüche 17 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß als Erythropoietin ein natives oder rekombinantes menschliches oder tierisches Erythropoietin oder ein Derivat hiervon verwendet wird.
- 10 24. Verwendung nach einem der Ansprüche 17 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß das Säugetier ein Mensch ist.

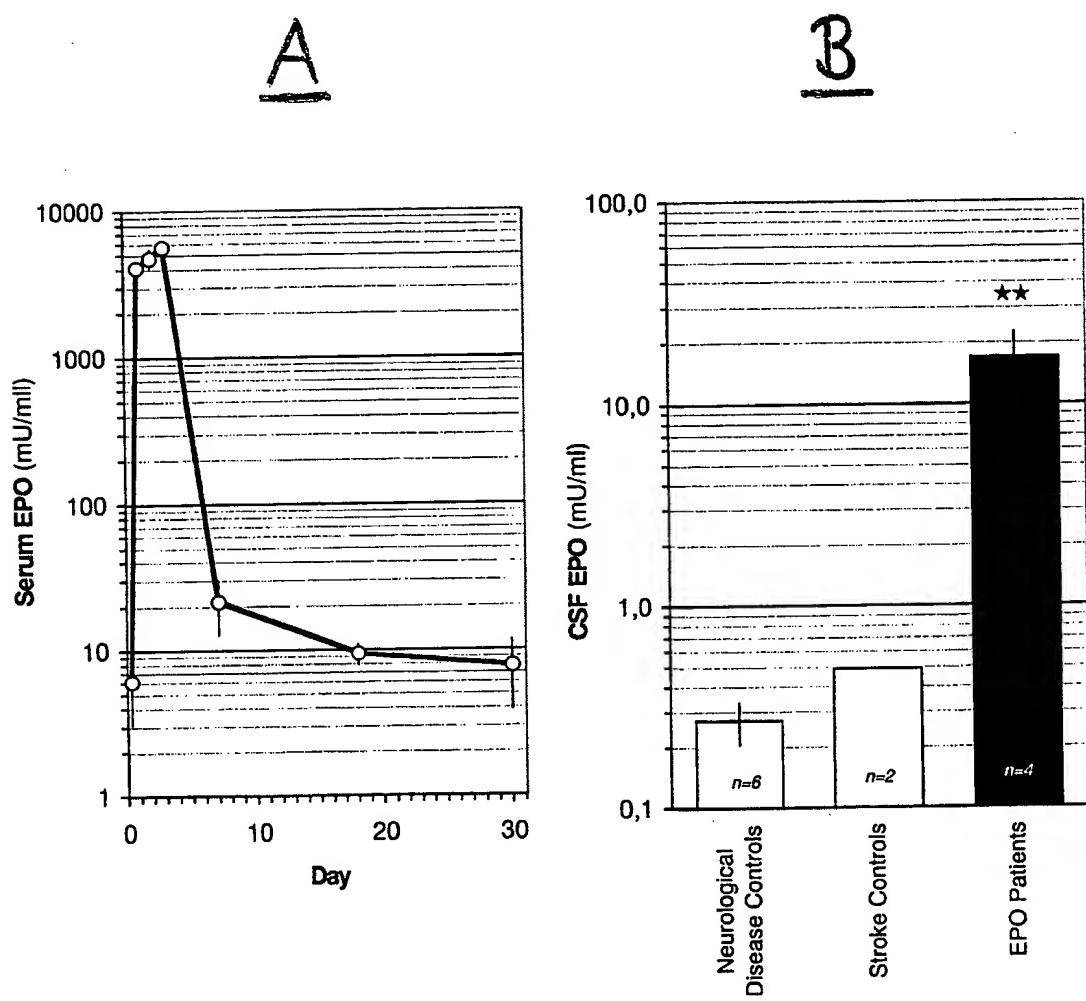


Fig. 1

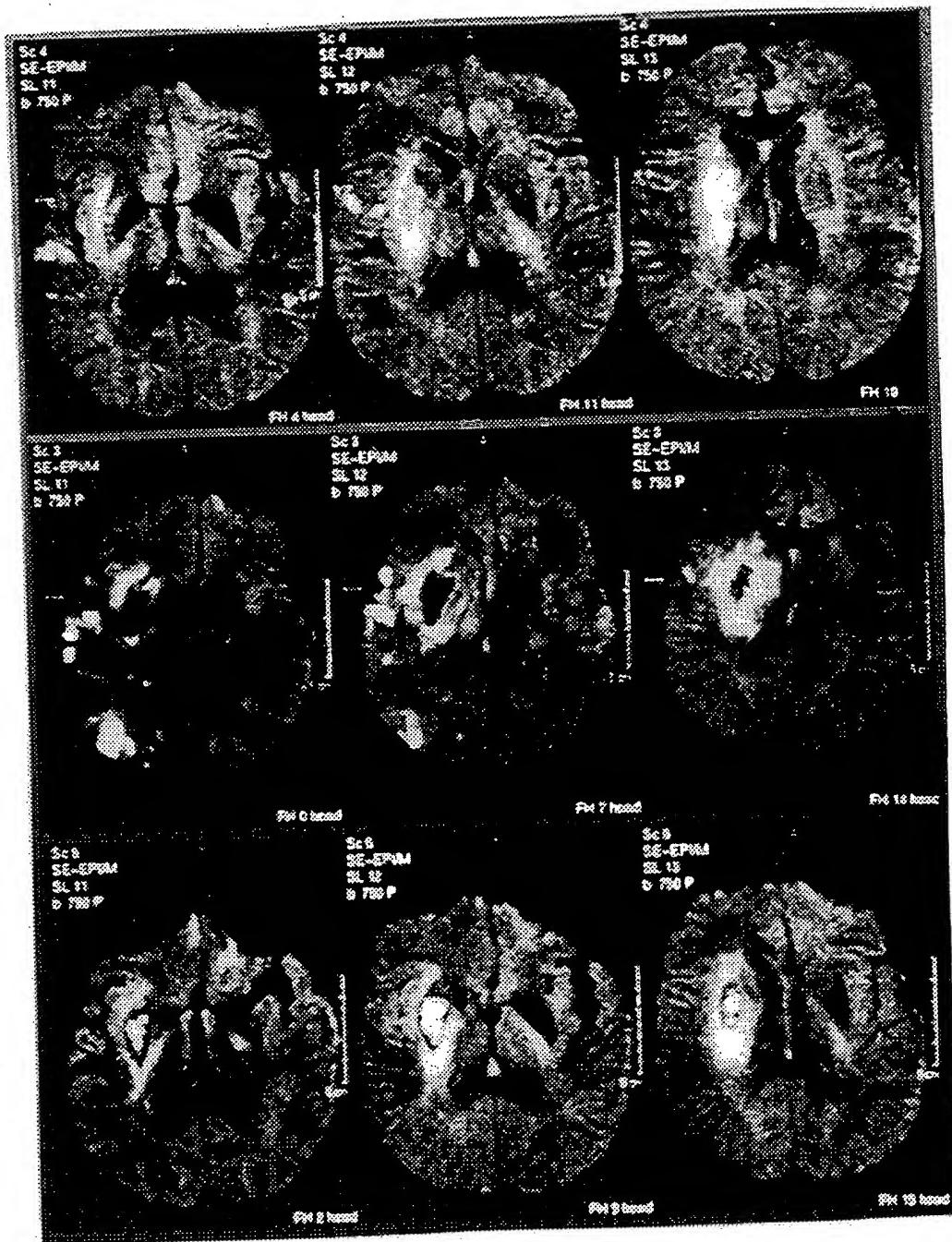
ABC

Fig. 2

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> : <b>A61K 38/18, A61P 9/10</b>		A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 00/35475</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. Juni 2000 (22.06.00)
 (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/09864  (22) Internationales Anmeldedatum: 13. Dezember 1999 (13.12.99)  (30) Prioritätsdaten: 198 57 609.9 14. Dezember 1998 (14.12.98) DE		 (81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>  (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 19. Oktober 2000 (19.10.00)	
 (54) Title: METHOD FOR THE TREATMENT OF CEREBRAL ISCHAEMIA AND USE OF ERYTHROPOIETIN OR ERYTHROPOIETIN DERIVATIVES FOR THE TREATMENT OF CEREBRAL ISCHAEMIA  (54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR BEHANDLUNG VON CEREBRALEN ISCHÄMIEN SOWIE VERWENDUNG VON ERYTHROPOIETIN ODER ERYTHROPOIETIN-DERIVATEN ZUR BEHANDLUNG VON CEREBRALEN ISCHÄMIEN  (57) Abstract  The invention relates to a method for the treatment of cerebral ischaemia and to an agent for the treatment of cerebral ischaemia, notably in humans, of the kind seen, for example, in stroke patients. Surprisingly it was found that the peripheral administration of erythropoietin to ischaemic cerebral tissue has a marked protective effect. Erythropoietin dramatically reduces the area of permanently damaged cerebral tissue, notably in the penumbra, in comparison to results obtained with conventional measures without administration of erythropoietin.  (57) Zusammenfassung  Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Behandlung von cerebralen Ischämien sowie auf ein Mittel zur Behandlung cerebraler Ischämien insbesondere des Menschen, wie sie beispielsweise bei Schlaganfallpatienten auftreten. Überraschend wurde gefunden, daß die periphere Gabe von Erythropoietin auf das von der Ischämie betroffene cerebrale Gewebe einen ausgeprägt protektiven Effekt aufweist. Erythropoietin bewirkt dabei, daß der Bereich des dauerhaft geschädigten cerebralen Gewebes, insbesondere in der Penumbra, dramatisch verkleinert wird gegenüber herkömmlichen Maßnahmen bei cerebraler Ischämie ohne Erythropoietingabe.			

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No

PCT/EP 99/09864

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 IPC 7 A61K38/18 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 7 A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, EMBASE, SCISEARCH

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>RUSCHER K ET AL: "Erythropoietin protects neurons from oxygen/glucose deprivation induced cell death."          SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS, vol. 24, no. 1-2, 1998, page 298          XP000923282          28th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Part 1; Los Angeles, California, USA; November 7-12, 1998          ISSN: 0190-5295          the whole document</p> <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-24

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
7 July 2000	24/07/2000
Name and mailing address of the ISA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Stein, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 99/09864

**C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SAKANAKA M ET AL : "In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage" PROC NATL ACAD SCI USA, vol. 95, April 1998 (1998-04), pages 4635-4640, XP002142085 cited in the application the whole document ----	1-24
A	BUNDESVERBAND DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE E.V.: "Rote Liste 1998" 1998 , AULENDORF/WURTT., EDITION CANTOR.; DE XP002142086 NeoRecormon-Fachinfo-Service 08045 ----	1-24
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 001 (C-1148), 6 January 1994 (1994-01-06) & JP 05 246885 A (CHUGAI PHARMACEUT CO LTD), 24 September 1993 (1993-09-24) abstract ----	1-24
A	WO 97 14307 A (ST ELIZABETH S MEDICAL CENTER) 24 April 1997 (1997-04-24) page 4, line 12 -page 5, line 22 claims 1-3,9-11 ----	1-24
A	DEL MASTRO L ET AL: "Strategies for the use of epoetin alfa in breast cancer patients" ONCOLOGIST, vol. 3, no. 5, 1998, pages 314-318, XP000923283 cited in the application the whole document, in particular the abstract and the commentary ----	1-24
P,X	MARTI H H ET AL: "Protective role of erythropoietin in brain ischemia." PHYSIOLOGICAL RESEARCH, vol. 48, no. SUPPL. 1, 1999, page S14 XP000923284 Second Congress of the Federation of European Physiological Societies and Czech Physiological Society; Prague, Czech Republic; June 30-July 4, 1999 ISSN: 0862-8408 the whole document -----	1-24

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/09864

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 05246885 A	24-09-1993	NONE	
WO 9714307 A	24-04-1997	AU 7454896 A EP 0883343 A JP 11514366 T	07-05-1997 16-12-1998 07-12-1999

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 99/09864

**A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 A61K38/18 A61P9/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data, EMBASE, SCISEARCH

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	RUSCHER K ET AL: "Erythropoietin protects neurons from oxygen/glucose deprivation induced cell death." SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS, Bd. 24, Nr. 1-2, 1998, Seite 298 XP000923282 28th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Part 1; Los Angeles, California, USA; November 7-12, 1998 ISSN: 0190-5295 das ganze Dokument  -/-	1-24

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
7. Juli 2000	24/07/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Stein, A

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09864

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SAKANAKA M ET AL : "In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage" PROC NATL ACAD SCI USA, Bd. 95, April 1998 (1998-04), Seiten 4635-4640, XP002142085 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1-24
A	BUNDESVERBAND DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE E.V.: "Rote Liste 1998" 1998, AULENDORF/WURTT., EDITION CANTOR.; DE XP002142086 NeoRecormon-Fachinfo-Service 08045 ---	1-24
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 018, no. 001 (C-1148), 6. Januar 1994 (1994-01-06) & JP 05 246885 A (CHUGAI PHARMACEUT CO LTD), 24. September 1993 (1993-09-24) Zusammenfassung ---	1-24
A	WO 97 14307 A (ST ELIZABETH S MEDICAL CENTER) 24. April 1997 (1997-04-24) Seite 4, Zeile 12 -Seite 5, Zeile 22 Ansprüche 1-3,9-11 ---	1-24
A	DEL MASTRO L ET AL: "Strategies for the use of epoetin alfa in breast cancer patients" ONCOLOGIST, Bd. 3, Nr. 5, 1998, Seiten 314-318, XP000923283 in der Anmeldung erwähnt das ganze Document, insbesondere die Zusammenfassung und der Kommentar ---	1-24
P,X	MARTI H H ET AL: "Protective role of erythropoietin in brain ischemia." PHYSIOLOGICAL RESEARCH, Bd. 48, Nr. SUPPL. 1, 1999, Seite S14 XP000923284 Second Congress of the Federation of European Physiological Societies and Czech Physiological Society; Prague, Czech Republic; June 30-July 4, 1999 ISSN: 0862-8408 das ganze Dokument ---	1-24

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/09864

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
JP 05246885 A	24-09-1993	KEINE	
WO 9714307 A	24-04-1997	AU 7454896 A	07-05-1997
		EP 0883343 A	16-12-1998
		JP 11514366 T	07-12-1999